

海馬歯状回顆粒細胞の樹状突起における情報処理の解析
 Analysis of information processing along the dendritic locations
 in the hippocampal granule cells

早川 博章[†] 上條 中庸^{††} 福島 康弘^{†††} 相原 威^{†,††,†††}
 Hirofumi Hayakawa Tadanobu Kamijo Yasuhiro Fukusima Takeshi Aihara
 † 玉川大学工学研究科
 † Graduate School of Engineering, Tamagawa University, Tokyo, Japan
 †† 玉川大学脳情報研究科
 †† Graduate School of Brain Sciences, Tamagawa University, Tokyo, Japan
 ††† 玉川大学脳科学研究所
 ††† Brain Science Institute, Tamagawa University, Tokyo, Japan

あらまし 海馬歯状回顆粒細胞の樹状突起は嗅内野II層から場所などの空間情報と匂いなどの非空間情報の入力を受ける。これらの情報は樹状突起の遠位部と中位部にわかれて入力することが知られている。先行研究において空間情報を記憶する際に匂いを嗅がせると海馬依存的な宣言記憶の保持成績が有意に向上することが報告されていることから、非空間情報が空間情報の処理に影響を与えている可能性が考えられる。しかし海馬においてこれらの情報がどのように処理されているのかは分かっていなかった。本研究では歯状回顆粒細胞の樹状突起に入力される空間情報と非空間情報がどのように処理されているのかを生理実験により明らかにし、マルチコンパートメントモデルによるシミュレーション実験から樹状突起部における情報処理様式を考察する。

キーワード 海馬、歯状回、顆粒細胞、樹状突起、情報処理

1. はじめに

人は外界における物体の位置情報を記憶することが出来る。一般的にこの記憶は陳述記憶と呼ばれ、海馬依存的な記憶である。近年、人の行動実験において、空間情報を記憶する際、同時に匂い情報(非空間情報)が存在すると、海馬依存的な再認課題の保持成績が有意に向上することが報告されている[1]。このことから海馬において何らかの情報処理が行われている可能性がある。

海馬への情報はまず歯状回に入力され、苔状線維を經由してCA3へ送られる。歯状回の主な興奮性細胞である顆粒細胞に入力される情報は、空間情報と非空間情報に起因する興奮性入力である。それらの入力部位は情報の種類によって異なり、嗅内野二層外側からの非空間情報は外側貫通枝LPP(Lateral perforant Path)を經由してLateral Dendriteへ入力され、二層内側からの空間情報は内側貫通枝MPP(Medial Perforant Path)を經由してMedial Dendriteへ入力されている[2]。またLateral DendriteとMedial Dendriteにおけるシナプス結合には違いがあることが報告されており、Lateral Dendriteではpaired-pulse facilitationが見られる[3]。これらの性質は入力周波数に応じて変化することから、嗅内野からの情報に対し何らかの情報処理が行われている可能性がある。しかし海馬に入力されるこれらの情報がどのように処理され統合されるのかは分かっていない。

本研究では、顆粒細胞の樹状突起に入力される情報がシナプス結合部位の性質の違いによってどのような処理がなされているのかを明らかにするために、電気生理実験とTsodyks (1998) [5]らのダイナミックシナプスモデルを用いた数値実験を行う。モデルフィッティングの結果から、歯状回に入力される情報に対しどのような処理を行って

るのかについて議論する。

2. 電気生理実験

2.1 実験方法

生理実験には3~4週齢のウィスターラットから摘出した海馬を、厚さ400 μ mでカットした海馬急性スライスを使用した。海馬急性スライスは混合ガス(O₂ 95%、CO₂ 5%)でバブリングしながら30 $^{\circ}$ Cに保温したACFS(NaCl 124.0mM, KCl 3.0mM, NaH₂PO₄ · 2H₂O 1.25mM, MgSO₄ · 7H₂O 2.0mM, NaHCO₃ 2.2mM, CaCl₂ · 2H₂O 2.5mM, C₆H₁₂O₆ 10mM)中で一時間以上インキュベーションした後、実験に使用した。

細胞外電位(fEPSP)を計測するためにACSFを満たした刺激電極(3m Ω)と記録電極(3m Ω)をLateral Dendriteへの刺激の場合には歯状回分子層の遠位部(OML: Outer Molecular Layer)に、Medial Dendriteへの刺激の場合には分子層の中位部(MML: Middle Molecular Layer)に刺入した(図1)。刺入位置と目的とする刺激位置が実際に一致しているか確認するために、インターバル200msのpaired-pulse刺激を行い、facilitationまたはdepressionが起こることを確かめた上で本実験を行った。

顆粒細胞の樹状突起における応答特性を調べるために、5発のトレインパルスをインターバル100Hz~0.06Hzの範囲で変えながらLateral DendriteまたはMedial Dendriteへ入力し、その応答を記録した。その際、歯状回に存在する抑制細胞が、周波数応答特性に及ぼす影響を調べるために、GABA_A, GABA_B受容体のアンタゴニストであるPicrotoxin(50 μ m)をACSFに加えた場合と比較した。記録された応答は一発目の刺激によるfEPSPの振幅を100%とし、二発目以降の応答を標準化し比較した。

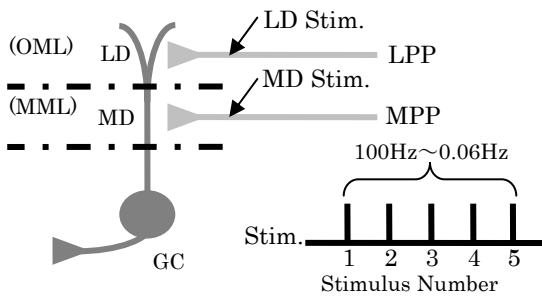


図1. 顆粒細胞への刺激位置

GC: granule cell, LD: Lateral Dendrite, MD: Medial Dendrite, OML: Outer Molecular Layer, MML: Middle Molecular Layer

2.2 実験結果

通常の ASCF の条件(Control 条件)下で Lateral Dendrite へ刺激を行った場合、1Hz 以下の刺激では応答に変化は見られず、常に一定の fEPSP を記録した(図 2.ab)。2Hz~10Hz では二発目の fEPSP の振幅に増加が見られた(図 2.cde)。20Hz 以上のインターバルでは 2~5 発目の fEPSP の振幅がすべて減少する傾向が見られた(図 2.f)。このことから、Lateral Dendrite の周波数応答は 10Hz 以下の入力であれば持続的であり、それ以上の周波数では応答が減少することがわかった。Picrotoxin を加えて実験したところ、5 Hz 以下の周波数では Control 条件下と同じ周波数応答を示したが、それ以上の周波数では Control に比べ応答が上昇することがわかった。

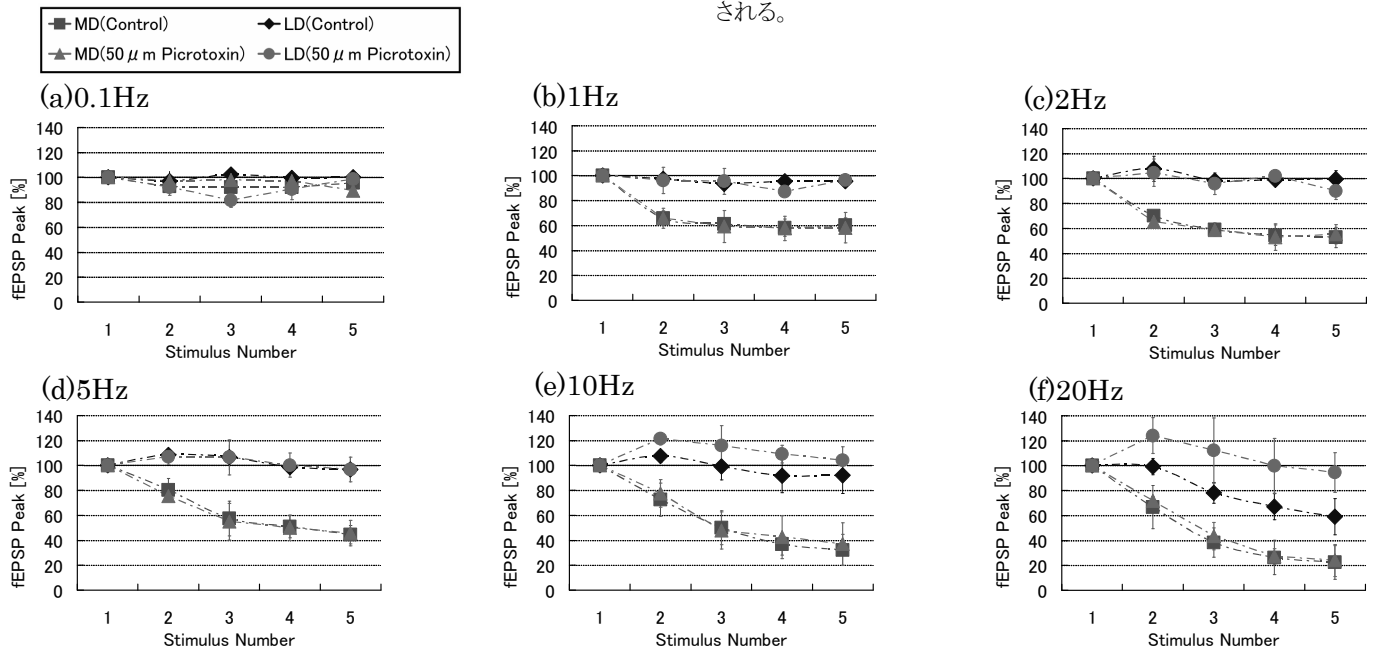


図2. 生理実験結果

Lateral Dendrite または Medial Dendrite を刺激して得られた応答特性。(a)刺激のインターバル 10s (0.1Hz)のときの結果。同様に(b)インターバル 1s (1Hz)。(c)インターバル 500ms (2Hz)。(d)インターバル 200ms (5Hz)。(e)インターバル 100ms (10Hz)。(f)インターバル 50ms (20Hz)。ひし形と丸のシンボルは Lateral Dendrite の応答、四角と三角のシンボルは Medial Dendrite の応答を示す。

Medial Dendrite へ刺激を行った場合、0.1Hz 以下の刺激では応答に変化は見られない(図 2.a)。しかし 1Hz 以上のインターバルでは 2~5 発目の fEPSP がすべて減少する傾向が見られた。このことから、Medial Dendrite の周波数応答は 1Hz 以上の入力に対し過渡的な応答を示すことがわかった。Medial Dendrite では Picrotoxin を加えた場合にも同様な応答を示した。

3. モデル実験

3.1 実験方法

電気生理実験で得られた顆粒細胞の応答特性を検証するために、神経細胞シミュレータ”NEURON”を用いてモデルシミュレーションを行った。本実験では細胞モデルとして Ferrant(2009)ら[4]による歯状回顆粒細胞のマルチコンパートメントモデルを使用する。また Lateral Dendrite、Medial Dendrite への入力を再現するために Tsodyks (1998)ら[5]によるダイナミックシナプスモデルを用いた。

Tsodyks らのダイナミックシナプスモデルとは、シナプス伝達における神経伝達物質の総量が常に一定であると仮定した上で、神経伝達物質の状態遷移を 3 つの状態変数と 4 つの微分方程式で記述したモデルである。このモデルではシナプスにある神経伝達物質は次の状態の内いずれかに存在し、図 3 のように遷移している。図中の τ_{inact} 、 τ_{facili} 、 τ_{rec} は状態遷移の時定数を表し、 τ_{inact} はシナプス間隙に存在する神経伝達物質が不活性化する時定数。 τ_{rec} は不活性化した神経伝達物質が再び Pre シナプスに取り込まれ、再放出可能となるまでの時定数。 τ_{facili} は Pre シナプスの発火による活性化(神経伝達物質の再放出割合の変化)の時間ウィンドウを決定する時定数である。また状態変数 R,E,I は次の微分方程式によって決定される。

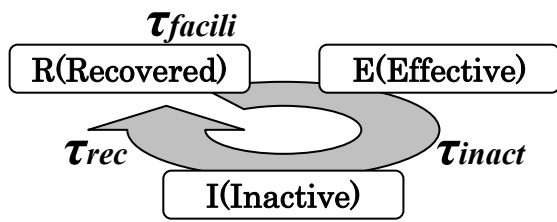


図3. 神経伝達物質の状態遷移

R(Recovered): 神経伝達物質がシナプス小胞に存在し放出可能である状態。**E(Effective)**: シナプス間隙に神経伝達物質が存在している状態。**I(Inactive)**: 神経伝達物質が不活性である状態。

$$\frac{dR(t)}{dt} = \frac{I(t)}{\tau_{rec}} - u(t)R(t)\delta(t - t_{sp}) \quad \dots (1)$$

$$\frac{dE(t)}{dt} = -\frac{E(t)}{\tau_{inact}} + u(t)R(t)\delta(t - t_{sp}) \quad \dots (2)$$

$$\frac{dI(t)}{dt} = -\frac{I(t)}{\tau_{rec}} + \frac{E(t)}{\tau_{inact}} \quad \dots (3)$$

$$\frac{du(t)}{dt} = -\frac{u(t)}{\tau_{facili}} + Use(1 - u(t))\delta(t - t_{sp}) \quad \dots (4)$$

ここで $\delta(t - t_{sp})$ は pre シナプスの発火を表し、シナプス前細胞に活動電位が到達した場合に1となる(それ以外はゼロ)。また $u(t)$ は(4)式によって定まる 0~1 の値を取る変数であり、Pre シナプス内に存在する神経伝達物質の放出割合を定めている (Use は $u(t)$ の増加量を決定する 0~1 の値を取る定数)。

ダイナミックシナプスモデルを用いて顆粒細胞モデルに入力を行なうために、Medial Dendrite 入力では樹状突起の中位部(細胞体から $140 \mu m - 230 \mu m$ の距離)に 50 個のシナプス結合があると仮定しランダムに入力位置を決定した。同様に Lateral Dendrite 入力では樹状突起の遠位部(細胞体から $270 \mu m$ 以上)に 50 箇所の入力位置を決定した(図4)。なお応答の評価には細胞体における膜電位変化を用いた。

これらのモデルを用いて、電気生理実験により計測された結果(Picrotoxin を加えた条件での結果)にモデルフィッティングを行った。

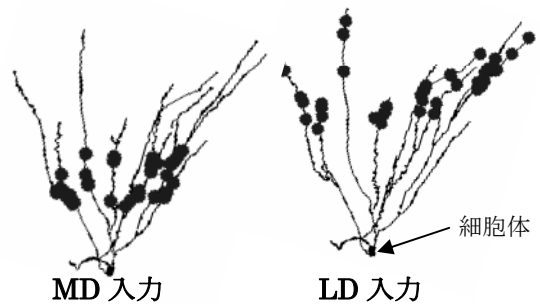


図4. 細胞モデルと入力箇所(丸は入力位置)

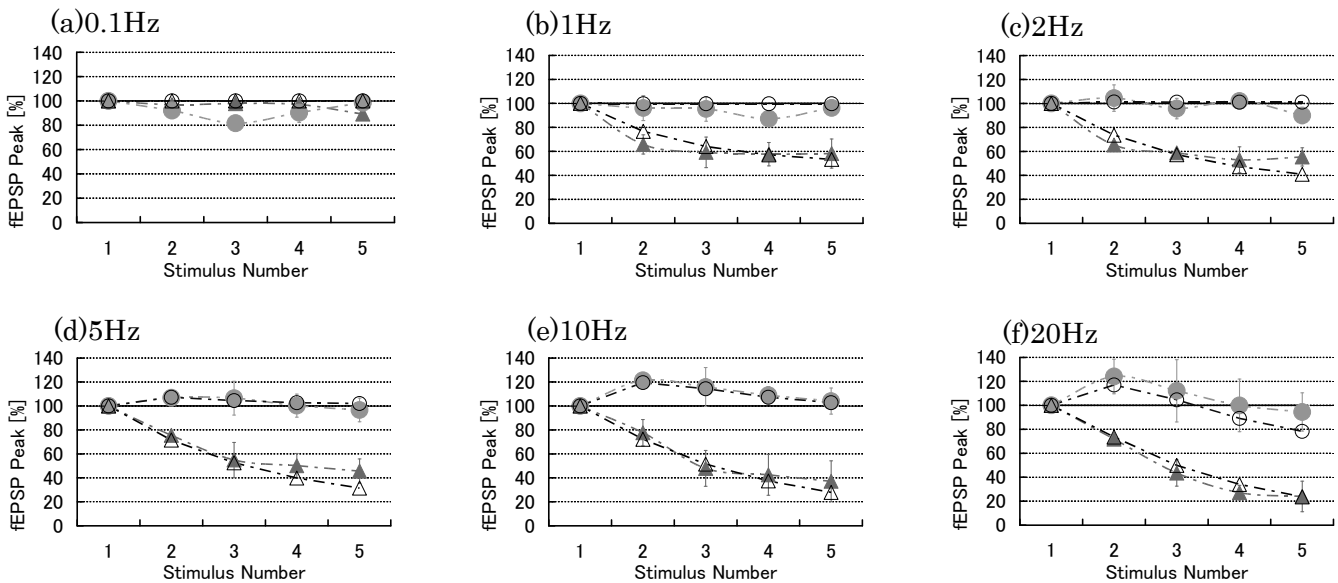
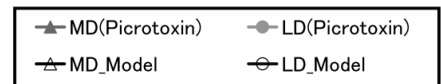


図5. 生理実験の結果とモデルの比較

丸のシンボルは Lateral Dendrite の生理実験結果、三角のシンボルは Medial Dendrite の生理実験結果。丸・中抜けのシンボルは Lateral Dendrite のシミュレーション結果、三角・中抜けは Medial Dendrite のシミュレーション結果を示している。また刺激のインターバルは図2と同様である。

さらにモデルフィッティングで得られたパラメータをもつ周波数応答特性モデルを用いてランダム入力に対する顆粒細胞の応答をシミュレーションした。シミュレーションの方法としては平均周波数 0.1Hz~20Hz のランダムな刺激系列を 500 セット作成し、LD または MD にある 500 個のシナプスに入力を行った。

3.2 実験結果

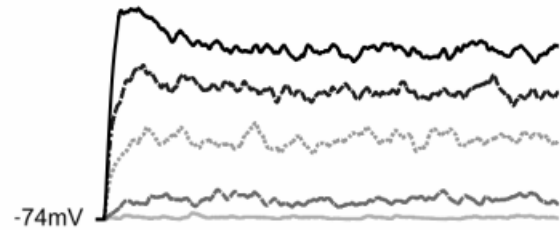
モデルフィッティングの結果、表1のパラメータを設定したときに最も実験結果と周波数応答特性が一致した(図5)。Lateral Dendrite と Medial Dendrite ではパラメータが異なり、2つの時定数 τ_{rec} と τ_{facili} に大きな違いが見られた。Medial Dendrite のシナプス結合部位では τ_{rec} の値が 3977ms と Lateral Dendrite の 248 ms に比べ大きいことから、I 状態の神経伝達物質が R 状態に遷移しにくいと考えられる。これは一度不活性化した神経伝達物質は、再利用可能となるまでの時間が長くかかることを示唆している。また Lateral Dendrite では τ_{facili} の値が 133ms と Medial Dendrite の 27ms に比べ大きいことから、シナプス前細胞の発火活動に起因する神経伝達物質の放出量の増加が持続しやすい傾向を示している。

表1. 設定したパラメータの値

	LD	MD
τ_{rec}	248 ms	3977 ms
τ_{facili}	133 ms	27 ms
τ_{inact}	1 ms	1 ms
Use	0.2	0.3

またランダム入力な入力に対してはLDとMDでは異なる応答を示した(図6)。LDではランダム入力の平均周波数が上昇するにつれて膜電位の上昇が見られる。一方MDではランダム入力の開始 250ms 以内であれば平均周波数に応じた膜電位の上昇が一時的に見られるが、その後応答が減少し 0.1Hz 以外の周波数入力に対しては常に同じレベルの膜電位応答を示した。このことから LD では入力される情報に対して Rate coding が、MD では時間窓内だけで応答が加算される、Temporal Coding が行われていると考えられる。

(a)DL



(b)MD

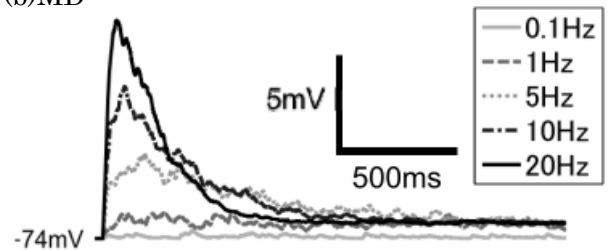


図6.ランダム入力に対する顆粒細胞の応答シミュレーション。上段は平均周波数の異なるランダムを LD に入力したときの応答。同様に下段は MD へ入力したときの応答を示している。

4. まとめ

生理実験から得られた結果より、抑制細胞をブロックした条件下において、Lateral Dendrite では 20Hz 以上の入力に対し応答の抑圧が見られた。これは Lateral Dendrite のシナプス結合にはフィルタリング特性($\leq 20\text{Hz}$)が存在し、10-20Hz を境に持続的な応答から、過渡的な応答に切り替わっていることを示唆している。また 10Hz 以上の入力に対して、抑制細胞の影響が顕著に現れていることから、歯状回に 10-20Hz 程度の高い周波数の入力があった場合には、抑制細胞による Lateral Dendrite への調節作用が働きフィルタリング特性を変化させていると考えられる。

同様に Medial Dendrite では 1Hz 以上の入力に対し応答の抑圧が見られることから Medial Dendrite のシナプス結合には、フィルタリング特性($\leq 1\text{Hz}$)が存在し、0.1Hz-1Hz を境に過渡的な応答から持続的な応答に切り替わっていることを示唆している。また抑制細胞をブロックしても応答に変化がないことから、抑制細胞の働きはあまりないと考えられる。

周波数応答特性を生じさせる要因としてシナプス前細胞とシナプス後細胞の 2つの可能性が考えられるが、先行研究より、皮質錐体細胞で見られる入力周波数に応じた応答の変化はシナプス前細胞の性質によるものであることが報告されている[5]。このことから歯状回顆粒細胞で見られる周波数応答特性についてもシナプス前細胞の影響が大きいと仮定し、モデルシミュレーションを行った。本研究で使用したダイナミックシナプスモデルはシナプス前細胞およびシナプス間隙に存在する神経伝達物質の振る舞いを記述したものであり、このモデルを用いることで Lateral Dendrite、Medial Dendrite に存在する周波数応答特性を

再現することができた。シミュレーションにより、内野二層内側から **Medial Dendrite** に投射している細胞はシナプス前末端において神経伝達物質を取り込み、再利用可能となるまでの時間が長くなるということがわかった。また嗅内野二層外側から **Lateral Dendrite** に投射している細胞はシナプス前末端において神経伝達物質の放出量の増加が持続しやすい傾向があることがわかった。これらのことから周波数応答特性がシナプス前細胞に起因する性質であるならば、この2つの性質の違いが、**Lateral Dendrite**、**Medial Dendrite** のフィルタリング特性の違いを生じさせていると考えられる。

さらにそれぞれの部位にランダムな入力を行った実験結果より **Lateral Dendrite**、**Medial Dendrite** のフィルタリング特性の違いから **Lateral Dendrite** では **Rate coding** が、**Medial Dendrite** では **Temporal Coding** が行われている可能性を示した。これは **Perforant Path** から伝わる情報が、**Dendrite** に入力される前にシナプス前末端において処理されている事を示している。従って、**Lateral Dendrite** へ匂いなどの非空間情報が入力された場合には、その平均入力周波数に応じて膜電位が上昇するため、情報の入力頻度に応じて細胞を活性化させていると考えられる。また **Medial Dendrite** では、入力される空間情報に対して **Temporal Coding** を行うことによって、入力されるスパイク列のインターバルがもつ情報を抽出している可能性がある。先行研究より、**Medial Dendrite** にはシータ周期(5-10Hz)の入力があると報告されている[7][8]ことから、**Medial Dendrite** はシータリズムに従って入力される情報の入力タイミング(同時性など)の検出を担っている可能性がある。また **Lateral Dendrite** では抑制細胞の働きにより、フィルタリング特性を変化させ、持続的な応答が可能な周波数帯域を変化させている可能性がある。

以上のことから **Lateral Dendrite** へ入力される非空間情報は情報の周波数(時間パターン)に応じて細胞を活性化させることで、入力される空間情報を修飾していると考えられる。これは空間情報を記憶する際、同時に匂い情報(非空間情報)が存在すると海馬依存的な再認課題の成績が有意に向上するという先行研究[1]の細胞レベルのメカニズムを表していると考えられる。本研究はシナプス前細胞の特性の違いに着目したモデルシミュレーションによりその情報処理様式を考察したが、今後はシナプス後細胞の関与についてもさらに詳細な実験を行いたい。

参考文献

- [1]Rasch B, et al., Odor cues during slow-wave sleep prompt declarative memory consolidation. *Science*,151,426-429(2007)
- [2]Hargreaves E.L., et al.,Major dissociation between medial and lateral entorhinal input to dorsal hippocampus, *Science*, 308, 1792-1794(2005)
- [3]Colino A., et al, Mechanisms underlying induction of long-term potentiation in rat Medial and Lateral Perforant Paths In Vitro, *APA*, 93,0022-3077(1993)
- [4]Ferrante M., et al, Feed-forward inhibition as a buffer of the neuronal input-output relation. *PNAS*,106,18004-18009 (2009)
- [5]Tsodyks M., et al, neural networks with dynamic synapses, *Neural Computation*,10,821-835 (1998)

[6]Awatramal B.G., et al., Modulation of transmitter release by presynaptic resting potential and background calcium levels,*Neuron*,48,109-121(2005)

[7]Alonso A., et al., Modulation of the oscillatory and repetitive firing properties of entorhinal cortex layer II neurons,*APA*, 97,0022-3077(1997)

[8]Alonso A., et al, Morphological and Electrophysiological properties of Lateral entorhinal cortex Layers II and III principal neuron. *Comparative neurology*, 491,123-140(2005)